

Trab. Dep. Botánica y F. Veg. 6: 45-49 (1973)

ACTIVIDAD LISOZIMICA EN HUEVOS DE LUCIO (*ESOX LUCIUS*) RECOGIDOS Y DESHIDRATADOS HACE CINCUENTA AÑOS

por

FLORENCIO BUSTINZA LACHIONDO

En el otoño de 1921 descubrió Alexander Fleming la lisozima, enzima que posee extraordinaria actividad lítica frente al *Micrococcus lysodeikticus*.

Con motivo del cincuentenario de dicho descubrimiento, leí el día 17 de noviembre de 1971 el discurso inaugural del año académico 1971-72 en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, con el título «En el cincuentenario del descubrimiento de la lisozima».

El primer trabajo de A. Fleming sobre la lisozima se titula «On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions» y se publicó en *Proceedings of the Royal Society, B*, vol. 93, págs. 306-317, 1922.

En su segundo trabajo sobre la lisozima, en colaboración con V. D. Allison, titulado «Observations on a bacteriolytic substance ("Lysozyme") found in secretions and tissues» y publicado en *Brit. J. Exp. Path.*, 3, 252 (1922), dio cuenta, por primera vez, de que los huevos de Pike —lucio— contienen lisozima, y presentó una fotografía (figura 4 de dicho trabajo), en la que se aprecia que su actividad inhibidora frente a *Micrococcus lysodeikticus* no se destruye aun después de haber estado expuestos durante tres meses a la acción deshidratante de disolventes, tales como cloroformo, éter, xilol, toluol, alcohol o acetona.

Ese trabajo fue entregado para su publicación el día 22 de julio de 1922, luego los huevos de lucio fueron recogidos cuando menos tres meses antes de dicha fecha.

El ingeniero de Montes, doctor Gutiérrez Calderón, jefe de la Es-

tación Central de Ecología del ICONA, me informó que en Inglaterra, en la región de Cambridge, es en el mes de marzo cuando las hembras de lucio adquieren la madurez sexual, aunque el momento varía con la temperatura, por lo cual estimo que fue en el mes de marzo de 1922 cuando A. Fleming pescó lucios en el pequeño río que pasa por su finca «The Dhoon», y obtuvo los huevos que los deshidrató con acetona.

A. Fleming, en su President's Address titulado «Lysozyme» (*Proc. of the Royal Soc. of Medicine*, december 1932, vol. XXVI (Section of Pathology, pp. 1-14), presenta una figura (la número 1) en la que hay dos fotografías: la de la izquierda refleja la actividad de huevos de lucio recientemente deshidratados con acetona en 1922, y la de la derecha refleja la actividad del mismo lote de huevos de lucio ensayados diez años después. Estos huevos habían estado encerrados en un tubo con tapón de corcho y expuestos durante esos diez años a la temperatura del laboratorio, y como dice A. Fleming, y ello se aprecia bien en la figura.

«It is clear from a comparison of these photographs, that after ten years the inhibitory power of the eggs has not altered.»

En 1942 ese mismo lote de huevos de lucio deshidratados en 1922, según revelando actividad lisozímica, y Alexander Fleming, en distintas ocasiones, se ha referido a dicho fenómeno (por ejemplo, en la conferencia que pronunció el 1 de junio de 1948 en el Hospital Municipal de Infecciosos en Barcelona, sobre «La lisozima»).

En 1953, en una conferencia que pronunció en la India sobre la lisozima, y estimo que pudo ser su última conferencia sobre dicha enzima, dijo así:

«Recently I again tested Pike's eggs and they do not seem to have lost any power for 30 years in a vessel not perfectly sealed and at room temperature.»

El 24 de julio de 1954, estando yo con sir Alexander en su laboratorio en «The Wright-Fleming Institute of Microbiology», buscó en su mesa un frasquito y me dijo:

«Aquí hay huevos de lucio que los cogí en 1922, están deshidratados con acetona y están ahí desde entonces. Ensáyelos y vea si aún tienen actividad lisozímica.»

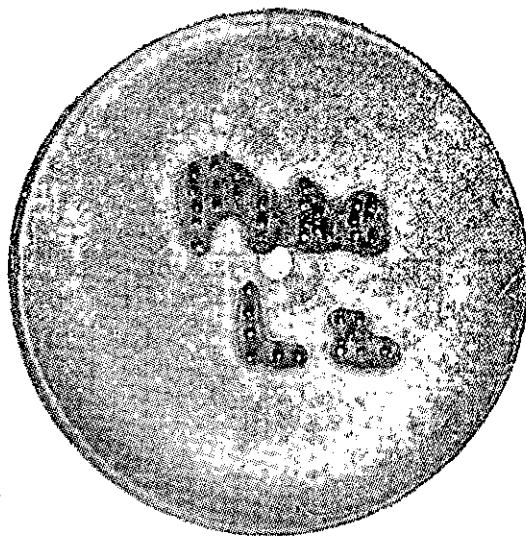


Fig. 1.—Resultado de uno de mis ensayos realizados en diciembre de 1954. Placa sembrada con *Micrococcus lysodeikticus*. (Véase la figura 22 en la página 195 de mi libro: *Diez años de amistad con Sir Alexander Fleming*.)

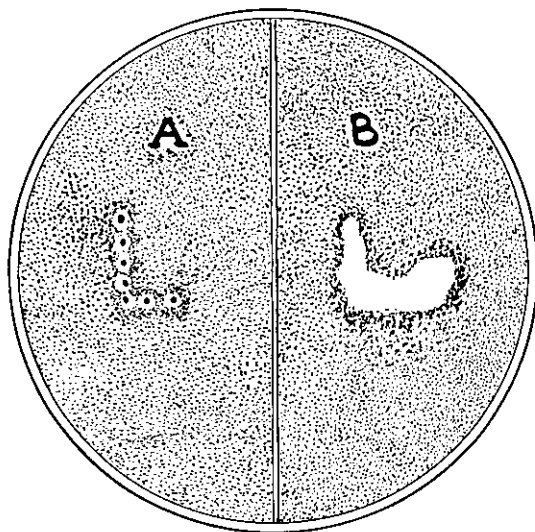


Fig. 2.—En A se ha representado el efecto antibacteriano de los huevos de lucio sobre *Micrococcus lysodeikticus*. En B (que corresponde a otro ensayo) se ha representado el efecto lítico de una suspensión de huevos de lucio en suero salino fisiológico estéril sobre un cultivo de veinticuatro horas de *Micrococcus lysodeikticus*, desarrollado sobre caldo-agar. Los huevos de lucio utilizados en los dos experimentos corresponden al lote de huevos recogidos y deshidratados con acetona por Alexander Fleming en 1922. (Dibujo realizado por la Sta. Rosalía Ramírez.)

En diciembre de ese año 1954 ensayé la actividad de dichos huevos frente a su *Micrococcus lysodeikticus*, y en uno de los experimentos que realicé se me ocurrió disponer los huevos de lucio como se refleja en la fotografía de la figura 1. Sobre una placa de agar nutritivo (caldo-agar), sembrada superficialmente por inundación con un cultivo en caldo de veinticuatro horas de *M. lysodeikticus*, dispuse los huevos de lucio que me había facilitado sir Alexander dibujando la palabra *Pike* —que en inglés quiere decir lucio—, y *Ls* como símbolo de la lisozima. Incubé la placa así preparada a 37 °C durante veinticuatro horas y en la foto se aprecia cómo alrededor de los huevos hay zonas claras que revelan que poseían actividad inhibitoria frente al *M. lysodeikticus* aun treinta y dos años después de haber sido recogidos y deshidratados.

Como conservaba aún un pequeño lote de esos huevos, en la primavera del presente año, 1972 —concretamente el primer ensayo lo realicé el día 23 de marzo— cuando se cumplen los cincuenta años de la publicación del trabajo del descubrimiento de la lisozima, he efectuado algunos sencillos ensayos, de alguno de los cuales daré cuenta a continuación:

Coloqué siete de los huevecillos de lucio mediante pinza estéril formando una *L* sobre una placa de caldo-agar previamente sembrada por inundación con un cultivo de *Micrococcus lysodeikticus* (1) desarrollado durante veinticuatro horas en caldo.

La placa así preparada se incubó en estufa a 37 °C y a las veinticuatro horas alrededor de los siete huevecillos se observaron patentes *halos de inhibición*, fenómeno parecido al que se refleja en la figura 1, que corresponde a uno de mis experimentos en 1954, pero los halos de inhibición eran menores que los correspondientes al experimento realizado en 1954 (véase A en figura 2).

El doctor Bartolomé Sabater determinó el peso de esos huevos de lucio y resultó aproximadamente de dos miligramos por huevo.

(1) La estirpe del *Micrococcus lysodeikticus* me la facilitó el profesor doctor don Julio Rodríguez Villanueva, y lleva el número 51 de su colección en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Salamanca, y antes de utilizarla en mis ensayos comprobé que era sensible a la lisozima.

También he utilizado la estirpe de *Micrococcus lysodeikticus* número 2.655 del N. C. T. C., que directamente me trajo de Inglaterra el profesor doctor don Angel Martín Municio.

Tomé diez de esos huevecillos y en mortero de ágata estéril los trituré con 0,5 c. c. de disolución salina fisiológica estéril y con pipeta Pasteur estéril tomé de esa suspensión y la extendí formando una L sobre un cultivo de veinticuatro horas del *Micrococcus lysodeikticus* en caldo-agar en placa Petri. Incubé en estufa a 37 °C y a los pocos minutos se apreció perfectamente una zona de aclaramiento que indicaba lisis del *M. lysodeikticus*, precisamente en la zona donde se había aplicado la suspensión en suero salino de los huevecillos de lucio (véase B en figura 2).

Repetí el ensayo con idéntico resultado: *lisis del Micrococcus lysodeikticus*.

En otro experimento realizado hirviendo previamente la suspensión de los huevecillos en suero salino fisiológico, el resultado fue negativo, *no se produjo lisis del M. lysodeikticus*, lo que revela que *la sustancia responsable de la lisis se inactiva por ebullición*.

Por falta de material —huevecillos de lucio deshidratados en 1922— no he realizado más experimentos, pero estimo que:

Con esos sencillos ensayos se ha puesto en evidencia la presencia de lisozima en los huevecillos de lucio deshidratados por Alexander Fleming en 1922, o sea, que a pesar del medio siglo transcurrido aún conservaban actividad lisozímica.

(Recibido el 20 de septiembre de 1972)

Laboratorio de Fisiología Vegetal
Facultad de Ciencias
Madrid